

s'allonge dans le terrain environnant. Souvent ces vrilles, ne trouvant pas immédiatement de filaments dans leur voisinage, s'appliquent le long de celui qui leur a donné naissance au-dessus de leur point de départ, et s'y enroulent (fig. *i*). D'autres fois deux cirres voisines s'entremêlent (fig. *j*), comme aussi on en rencontre qui, n'ayant pas trouvé de support à leur portée, se contournent seulement sur elles-mêmes; mais, aussitôt qu'elles se trouvent en contact avec une autre, la préhension a lieu.

Ces filaments cirroïdes me semblent donc devoir représenter de véritables vrilles, à l'état le plus simple il est vrai, puisque ce ne sont que de simples filaments, et leur être assimilés.

Il résulte de ces diverses observations que des vrilles peuvent être rencontrées chez les Champignons supérieurs et que les poils extérieurs du *Sepultaria Sumneriana* et peut-être d'autres espèces du même genre sont susceptibles de former des ramifications cirrifères et préhensives en nombre d'autant plus grand que ces filaments pénètrent un terrain plus granuleux et moins compact.

M. Mangin fait à la Société la communication suivante :

SUR LA CONSTITUTION DE LA MEMBRANE CHEZ QUELQUES CHAMPIGNONS, EN PARTICULIER CHEZ LES POLYPORÉES, par **M. Louis MANGIN**.

Dans des communications antérieures, j'ai insisté à plusieurs reprises sur l'inconvénient de désigner la substance fondamentale de la membrane des Champignons par un terme unique, tel que celui de *Pilzcellulose* adopté par de Bary. Une telle expression pouvait être admise, à la rigueur, quand on croyait encore à l'unité de composition de la substance fondamentale de la membrane. Cette hypothèse est aujourd'hui erronée, même pour les Phanérogames où la constitution de la membrane est le plus simple. Chez les Champignons, ainsi que je l'ai annoncé, la constitution de la membrane est très complexe : variable d'une famille à l'autre, souvent même d'un genre à un autre genre, il n'est pas possible, même en faisant abstraction des substances incrustantes, de la ramener à un type uniforme. Le terme de cellulose des Champignons ou de *Pilzcellulose* doit donc être abandonné, non seulement parce que la cellulose n'est pas la seule substance de la membrane, mais encore parce que, dans certaines espèces, il est im-



possible de trouver rien qui ressemble à la substance désignée sous ce nom.

Les observations que je veux présenter aujourd'hui à la Société, relatives à certaines Polyporées, ont été provoquées par de récents travaux sur cette question.

Les données fournies sur la membrane des Champignons, peu nombreuses, ont été résumées avec une grande netteté jusqu'en 1884, par M. de Bary (1).

Il y a quelques années, M. Hoffmeister (2) a consacré à la membrane des Champignons un chapitre de son travail sur la cellulose et ses formes.

Ce travail n'ayant pas été cité dans les publications récentes, je l'analyserai brièvement.

Les objets à étudier sont soumis par M. Hoffmeister au traitement suivant : on les place dans l'eau additionnée d'acide chlorhydrique et de chlorate de potasse, et on les y laisse séjourner à la température ordinaire jusqu'à ce que la masse devienne blanche.

Les tissus du Bolet jaune qui ont subi ce traitement sont devenus mucilagineux et ne peuvent être lavés par filtration qu'avec une grande difficulté; si l'on ajoute de l'eau ammoniacale, les lavages sont plus difficiles. Néanmoins, en exécutant la filtration sous pression et pendant longtemps, l'auteur a pu obtenir un résidu insoluble, blanc à l'état humide, corné et transparent à l'état sec. Ce résidu est encore impur, car il renferme 7 pour 100 de cendres et 2 pour 100 d'azote.

Pour le purifier, M. Hoffmeister le traite par la soude caustique à 5 pour 100, la plus grande partie se dissout; on neutralise par l'acide chlorhydrique et on précipite par l'alcool, puis on lave. En renouvelant ce traitement à plusieurs reprises, on obtient une masse blanche *exempte de cendres et d'azote*.

La masse blanche floconneuse ainsi obtenue se dissout inégalement dans les solutions de soude de 1 1/2 à 6 pour 100, et l'auteur distingue ainsi plusieurs formes dont deux principales : l'une floconneuse, soluble dans les solutions fortes; l'autre pulvérulente, soluble dans les solutions faibles.

(1) De Bary, *Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilz, Mycetozoen und Bacterien*. Leipzig, 1884.

(2) W. Hoffmeister, *Die Rohfaser und einige Formen der Cellulosen* (*Landwirthsch. Jahrbücher*, Bd XVII, 1888).



Ces formes se dissolvent dans l'acide chlorhydrique, la forme pulvérine est insoluble dans le réactif cupro-ammoniacal; la forme floconneuse, d'abord gonflée dans ce réactif, s'y dissout ensuite facilement. *Aucune de ces formes ne donne, avec les réactifs iodés [chlorure de zinc iodé, iode et acide sulfurique], la coloration bleue caractéristique de la cellulose.*

Deux faits importants se dégagent de ces premières recherches : *l'absence d'azote dans le produit obtenu et le résultat négatif des réactions colorantes habituelles de la cellulose.*

Plus récemment M. Vinterstein (1) a publié, sur la membrane des Champignons, le résultat de ses observations. Les recherches de cet auteur sont, par plus d'un côté, semblables comme méthode à celle que je viens de rappeler et cependant, par une omission regrettable, on ne trouve, dans le travail de M. Vinterstein, aucune mention des résultats de M. Hoffmeister.

M. Vinterstein a employé dans ses recherches les espèces suivantes : *Boletus edulis*, *Polyporus officinalis*, *Agaricus campestris*.

Voici la suite des opérations avec le *Boletus edulis*. Les Champignons sont lavés à l'éther, puis à l'alcool à 90 degrés, et de nouveau chauffés avec l'alcool étendu (2), on lave ensuite à l'eau froide tant qu'il se dissout des matières brunes. On traite alors par une solution de potasse à 1/2 ou 1 pour 100, pour éloigner les matières protéiques; après lavage à l'eau, on fait bouillir le résidu pendant plusieurs heures avec l'eau et l'on obtient une substance gélatineuse que l'alcool précipite. On laisse macérer pendant quatorze jours dans le liquide de Schulze, après lavage à l'eau on laisse digérer avec l'ammoniaque étendue pendant une demi-heure; on décante et on lave sur le filtre à l'eau distillée jusqu'à disparition de la réaction alcaline. M. Vinterstein n'a pas été surpris, comme on le voit, de la difficulté d'opérer les lavages dans une solution alcaline.

(1) Vinterstein (E.), *Zur Kenntniss der Pilzcellulose (Bericht. der deutsch. Bot. Gesellsch. Bd, 11, 1893).*

(2) L'auteur ajoute que les solutions alcooliques laissent déposer des cristaux de tréhalose; il oublie de mentionner que M. Bourquelot avait signalé avant lui la présence de ce sucre, dans la même espèce, dans le travail suivant : *Sur la répartition des matières sucrées dans le Cèpe comestible (Boletus edulis Bull.) et dans le Cèpe orangé (Boletus aurantiacus Bull.) [Bull. Soc. mycol. de France, t. VIII, 1892].*



Après lavage à l'éther et à l'alcool, on obtient une masse jaune clair faiblement friable, complètement soluble à froid dans l'acide chromique concentré, dans 75 pour 100 d'acide sulfurique, soluble aussi dans une solution chaude de potasse à 5 ou 20 pour 100.

Il résulte des observations de M. Vinterstein, deux faits qui sont en contradiction absolue avec les résultats annoncés par M. Hoffmeister : d'une part, l'iode et l'acide sulfurique donneraient la coloration bleue ou violette caractéristique de la cellulose sur le produit obtenu avec le *Boletus edulis*; d'autre part, ce produit renfermerait une proportion d'azote assez considérable (2,90 pour 100 chez le *Boletus edulis*; 2,64 pour 100 chez le *Polyporus officinalis*; 3,58 pour 100 chez l'*Agaricus campestris*).

Si M. Vinterstein avait pris connaissance du travail de M. Hoffmeister, il aurait pu constater que ce dernier auteur attribue l'azote trouvé dans le produit retiré de la membrane à des impuretés, et qu'il a réussi à obtenir une substance privée d'azote. M. Vinterstein ne semble pas avoir songé à cette origine, ni cherché à éliminer cette cause d'erreur possible. Il se borne à dire que deux acceptions sont possibles au sujet de la nature de la membrane : ou bien la substance obtenue se compose de cellulose et d'une substance azotée incrustante dont les propriétés seraient à établir; ou bien elle est semblable à la cellulose et s'en distingue essentiellement parce qu'elle renferme de l'azote (1).

Quelques essais de contrôle n'eussent pas été superflus pour décider celle des deux hypothèses à laquelle se rattache l'auteur.

Enfin, en soumettant à l'hydrolyse le produit ainsi préparé, M. Vinterstein a obtenu un sucre dont l'osazone fond à 202 degrés ou 204 degrés et constitue par suite de la dextrose.

L'auteur ajoute que les résultats obtenus avec le *Polyporus officinalis* et avec l'*Agaricus campestris* sont semblables à ceux qu'a fournis le *Boletus edulis*.

On voit ainsi que M. Vinterstein est en contradiction absolue avec M. Hoffmeister au sujet de la nature de la membrane des Champignons. Pour M. Vinterstein, celle-ci possède les réactions colorantes de la cellulose, mais elle en diffère par la présence d'une certaine quantité d'azote. Pour M. Hoffmeister, la membrane du

(1) « Oder es liegt hier eine ein Verhalten der Cellulose ähnlich Substanz vor, welche von letzterer sich aber durch unterscheidet, dass die Stickstoffhaltig ist ». *Loc. cit.*, 443.



Bolet jaune, débarrassée des matières incrustantes, est une substance floconneuse blanche privée d'azote et ne donnant pas les réactions de la cellulose avec les réactifs iodés.

Je ne me propose pas de chercher comment ces deux auteurs ont pu émettre sur le même sujet, traité avec la même méthode, des vues si diamétralement opposées; je me bornerai à signaler les résultats que m'ont fournis les recherches microchimiques appliquées à l'étude de la membrane chez certains Champignons basidiomycètes, et particulièrement chez les Polyporées. On verra que, dans la partie des recherches dont la méthode est semblable à celles qui viennent d'être résumées, ces résultats confirment les idées de M. Hoffmeister et sont en opposition avec celles de M. Vinterstein.

Différents Basidiomycètes, tels que : *Boletus purpureus*, *Agaricus campestris*, *Cantharellus cibarius*, *Polyporus versicolor*, *P. fomentarius*, *P. igniarius*, *Dædalea quercina*, etc., ont été traités, pendant vingt-quatre ou quarante-huit heures, par le mélange de M. Hoffmeister, c'est-à-dire par l'acide chlorhydrique étendu et le chlorate de potasse. Lorsque la masse est devenue blanche, on lave à l'eau et à l'ammoniaque faible par décantation; car, ainsi que l'a reconnu M. Hoffmeister, il est impossible de filtrer la masse gélatineuse obtenue dans ces conditions.

En examinant au microscope le résidu de ces divers traitements, on distingue nettement les filaments mycéliens. Leur membrane est assez mince quand on les observe dans un liquide acide; mais, dans un liquide alcalin (carbonate de soude, ammoniaque faible), elle se gonfle beaucoup et prend une apparence stratifiée très nette.

Sous l'action de l'acide phosphorique iodé à divers états de concentration, ces filaments ne se colorent jamais en bleu ou en violet; ils prennent une teinte jaune. Même après l'action de la potasse caustique en solution alcoolique saturée, la coloration bleue n'apparaît pas.

J'ai montré (1) que, dans tous les tissus qui renferment de la cellulose, l'action successive de la potasse en solution alcoolique et de l'acide phosphorique iodé permettait de mettre en évidence

(1) L. Mangin, *Sur les réactifs colorants des substances fondamentales de la membrane* (Comptes rendus, 1890).



et immédiatement, avec une intensité colorante très nette, la coloration bleue caractéristique de cette substance. Le résultat, toujours négatif, des nombreux essais que j'ai réalisés sur les espèces mentionnées ci-dessus avec les mêmes réactifs m'autorise à dire que la cellulose, telle qu'on la définit aujourd'hui, n'existe pas dans la membrane de ces Champignons. Mes recherches confirment les vues exprimées par M. Hoffmeister sur le Bolet jaune et contredisent les faits avancés par M. Vinterstein et depuis plus longtemps par M. Richter (1).

L'inertie des réactifs iodés sur les membranes ayant subi la macération de Hoffmeister étant bien constatée, j'ai essayé d'autres réactifs colorants.

Les colorants tétrazoïques de la série benzidine ont été employés tout d'abord parce que ces colorants se fixent énergiquement sur la cellulose et sur la callose en bain alcalin (2).

Le Congo, la benzo-purpurine, l'azo-bleu, l'azo-violet, la rosazurine, le benzo-bleu noir, etc., colorent nettement tous les filaments mycéliens des espèces que j'ai citées. Pour décider si ces colorations caractérisent la callose, j'ai employé le mélange de bleu soluble [bleu de triphénylrosaniline trisulfoné existant pur ou en mélange dans les produits commerciaux, tels que : *bleus coton*, *bleus papier*, *bleus solubles à l'eau*] et d'orseilline BB, qui teignent le premier la callose, le second la cellulose en bain acide.

A l'aide de ce réactif, on peut séparer les espèces citées en deux groupes. L'un, comprenant le *Boletus purpureus*, l'*Agaricus campestris*, le *Cantharellus cibarius*, renferme des espèces ne donnant pas les réactions de la callose, mais fixant l'orseilline plus ou moins énergiquement; l'autre, comprenant le *Polyporus igniarius*, le *Polyporus versicolor*, le *P. fomentarius*, le *Dædalea quercina*, renferme des espèces dont le mycélium se colore fortement par le bleu d'aniline et manifeste ainsi la présence de la callose.

D'ailleurs, même après l'action prolongée de la macération de Hoffmeister, la substance blanche obtenue n'est pas encore pure; si on la traite par un mélange de bleu naphtylène et de vert acide,

(1) Richter (C.), *Beiträge zur genaueren Kenntniss der chemischen Beschaffenheit der Zellmembranen bei den Pilzen* (Sitzungsb. der Akad. math. natur. Classe I abth. Bd 83; Wien, 1881).

(2) L. Mangin, *loc. cit.* (Comptes rendus, 1890).



ou de *rouge de ruthénium* et de *violet acide 10 B*, les filaments mycéliens dont elle se compose se teignent énergiquement en rose ou en violet, tandis que, dans la cavité cellulaire, on aperçoit des masses protoplasmiques granuleuses colorées en vert ou en violet foncé.

La membrane renferme donc, outre la substance qui se colore avec les couleurs de benzidine, une autre substance qui fixe les colorants basiques et qui rappelle, par cette élection colorante, les composés pectiques.

En ce qui concerne le premier groupe, *Agaricus campestris*, *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius*, la membrane renfermerait, après la disparition des matières importantes, deux composés différents : l'un, inerte vis-à-vis des réactifs iodés, fixe les couleurs de benzidine en bain alcalin et l'orseilline BB en bain acide; on pourrait peut-être le rapprocher de la cellulose, dont il ne diffère que par son inertie vis-à-vis des réactifs iodés. Le terme d'*hémicellulose* appliqué, ainsi que je l'ai montré, à des substances qui n'ont aucune des réactions de la cellulose ordinaire, conviendrait bien, dans ce cas, à ce composé encore mal défini. L'hydrolyse des tissus de l'*Agaricus campestris* a fourni un sucre dont l'osazone fond à 186 ou 187 degrés, mais la quantité obtenue a été trop faible pour permettre de caractériser ce sucre. Je reviendrai plus tard sur cette question.

Le deuxième groupe de Champignons, Polypores divers (*P. igniarius*, *P. versicolor*, etc.), *Dædalea quercina*, renferme des espèces dont le mycélium est incrusté de substances brunes comparables à celles qui incrustent les cellules lignifiées; après la disparition de ces substances, la membrane est formée en grande partie par la substance que j'ai désignée sous le nom de *callose* et par un autre composé fixant les colorants basiques et comparable, à ce point de vue, aux composés pectiques.

J'ai employé surtout dans mes recherches le *Polyporus igniarius*, le *P. fomentarius* et l'Amadou du commerce.

Les tissus de ces Champignons, traités par le mélange d'acide chlorhydrique et de chlorate de potasse, ne tardent pas, après plusieurs jours, à se transformer en une masse blanche, qui, après lavage et addition d'ammoniaque faible, donne une masse brune que des lavages répétés débarrassent de la substance colorante et transforment finalement en une pâte jaune bistre qui se désagrège



dans l'eau en une multitude de filaments. En soumettant de nouveau cette pâte à l'action du mélange de Hoffmeister pendant quelques heures, on obtient une masse blanche qu'on lave et qu'on filtre sur un tamis de toile ou de crin. Les filaments s'enchevêtrent et forment une lame résistante qui constitue, après dessiccation, un papier ne contenant pas de cellulose et dont les filaments manifestent avec une grande netteté la coloration bleue de la callose. Le papier de Polypore ou d'Amadou prend une consistance gélatineuse en présence de l'ammoniaque et devient translucide par la dessiccation. Il est soluble dans le bichlorure d'étain, dans le chlorure de zinc, dans la potasse ou la soude caustiques. La solution sodique ou potassique étendue d'eau précipite par l'acide acétique et forme une masse gélatineuse qui, additionnée d'orseilline BB et de bleu soluble, prend une magnifique coloration bleue.

Dans les mêmes conditions, le *Dædalea quercina* fournit une masse gélatineuse qui, traitée à l'ébullition par le carbonate de soude, se dissout en grande partie; le résidu compact se colore en rose par l'orseilline BB et dénote la présence d'une substance analogue à celle de la membrane de l'*Agaricus campestris*, substance que je désigne sous le nom d'*hémi-cellulose*; le liquide filtré est précipité par l'alcool, et le résidu possède toutes les réactions de la callose.

J'ai voulu savoir si les réactions colorantes de la callose correspondaient à un principe immédiat défini et j'ai soumis le résidu blanc obtenu avec la macération de Hoffmeister, à l'hydrolyse par l'ébullition prolongée avec l'acide sulfurique à 4 ou 5 pour 100.

La liqueur brune obtenue, neutralisée par le carbonate de baryte et clarifiée, a fourni un sirop de sucre. Par l'action de la phénylhydrazine acétique on obtient deux osazones : l'une, insoluble dans l'eau bouillante, peu soluble dans l'alcool; l'autre, soluble dans l'alcool à froid et dans l'eau bouillante.

La première osazone, purifiée par des lavages répétés à l'éther, à l'alcool et au chloroforme, fond à 193 degrés et représente la *galactosazone*; la seconde, purifiée par des cristallisations successives dans l'eau, fond vers 182 ou 183 degrés. La première correspondrait au *galactose*, la deuxième au *rhamnose*.

M. Vinterstein a trouvé dans les mêmes conditions une seule osazone, fondant à 203 degrés, et qu'il rapporte à la *glucosazone*.



La différence des points de fusion entre la galactosazone (193 degrés) et la glucosazone (203 degrés) est assez grande pour qu'il paraisse difficile de confondre ces deux produits. Cependant, en pratique, il n'est pas toujours commode de distinguer les osazones par leur point de fusion ; car, malgré les purifications, ce point de fusion n'est pas constant. Ainsi la glucosazone obtenue avec du glucose pur et purifiée par des lavages répétés peut fondre à 195 degrés, quand elle est maintenue pendant un certain temps à cette température ; ce fait se vérifie pour la plupart des osazones.

Pour vérifier si l'osazone que j'avais obtenue était différente de celle que M. Vinterstein a préparée, j'ai toujours observé les points de fusion par comparaison et de la manière suivante. Une capsule en porcelaine remplie de mercure est plongée dans un bain de sable, et le tout est porté à la température de 193 degrés. D'autre part, on prend des tubes en verre mince d'un diamètre de 2 à 3 millimètres, fermés à l'une des extrémités et contenant, l'un de la glucosazone pure, l'autre l'osazone du Polypore amadouvier ; on plonge les deux tubes en même temps dans le bain de mercure et l'on peut constater, au bout de quelques minutes, que l'osazone du Polypore fond la première et très rapidement. La glucosazone fond à son tour et très lentement, sans devenir complètement fluide comme la précédente. Je puis donc affirmer que l'osazone du Polypore insoluble dans l'alcool est de la galactosazone.

Ces observations montrent que la détermination des sucres, par les points de fusion des osazones correspondantes, peut conduire à des erreurs en raison de la variabilité de ces derniers. Les essais ne seront concluants que s'ils sont exécutés comparativement.

Nous pourrions formuler les résultats de cette première et incomplète étude de la manière suivante :

La membrane de certains Basidiomycètes (*Agaricus campestris*, *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius*, *Polyporus igniarius*, *P. fomentarius*, *P. versicolor*, *Dædalea quercina*, etc.) ne présente pas, lorsqu'elle a été débarrassée des substances incrustantes, les réactions ordinaires de la cellulose avec les réactifs iodés, contrairement aux assertions de MM. Richter et Vinterstein.

Parmi ces espèces, les unes, telles que l'*Agaricus campestris*, le *Boletus edulis*, le *Cantharellus cibarius*, possèdent dans la membrane une substance fondamentale qui se colore par les réactifs



tétrazoïques (colorants acides) de la cellulose : orseilline BB en bain acide, Congo en bain alcalin; ce serait une hémi-cellulose qui serait accompagnée d'une autre matière fixant énergiquement les colorants basiques.

D'autres espèces, au contraire, telles que les *Polyporus igniarius*, *P. fomentarius*, *P. versicolor*, etc., présenteraient la callose associée aussi à une substance fixant les colorants basiques. Par l'hydrolyse, les tissus de ces espèces fourniraient deux sucres, l'un qui serait la galactose, l'autre qui par son osazone se rapprocherait du rhamnose.

Je me propose d'étendre ces recherches et de vérifier prochainement si les relations que ces résultats établissent entre la callose et la galactose sont bien fondées.

M. le Secrétaire général donne lecture des communications suivantes :

**MALADIE BACILLAIRE DES VIGNES DU VAR, par MM. PRILLIEUX  
et DELACROIX.**

M. Marion, professeur à la Faculté des sciences de Marseille, a adressé, il y a quelques semaines, au laboratoire de Pathologie végétale, des ceps de Vigne malades qu'il avait reçus de M. Cochard, propriétaire à la Cadière (Var). Ce sont des Vignes françaises, greffées sur diverses Vignes américaines, *Riparia* et autres. Le mal dont elles sont atteintes n'avait pas encore été observé dans la région; M. Marion décrit ainsi cette maladie :

« Des souches ayant donné des masses de fruits se dépouillent  
» plus vite que les voisines. En mars, on les taille sans rien con-  
» stater de mauvais. Les sarments sont sains, verts, en sève, et  
» brusquement, en quelques jours, le desséchement atteint les  
» parties aériennes. La première année, la Vigne repousse du  
» pied; mais l'année suivante, après recépage, nouveau phéno-  
» mène identique, les parties souterraines se dessèchent à leur  
» tour et la Vigne meurt. »

Dans les premiers jours de ce mois (mai), nous avons reçu un nouvel envoi de ceps malades, provenant d'un point éloigné du vignoble où avaient été observées les premières atteintes du mal.